

[Kozlov V.N. Morphological and functional changes in the liver of white rats with experimental hypothyroidism. *Veterinarnaya meditsina*. 2006; 2-3: 33-35. (In Russ.)]

4. Козлов В.Н. Патоморфологические изменения в почках у крыс при гипотиреозе и его коррекции йодобогатёнными рационами // Рос. ветеринарн. ж. Мелкие домашние и дикие животные. — 2007. — №2. — С. 19-21. [Kozlov V.N. Pathomorphological changes in the hypothyroid rat kidneys and its correction by the iodine enriched rations. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2007; 2: 19-21. (In Russ.)]

5. Мамцев А.Н., Козлов В.Н., Бондарева И.А. Экспериментальная оценка йодобогатённых рационов питания и кормов на основе хронобиологических исследований и хемилюминесцентного метода анализа. — Уфа: Гилем, 2005. — 107 с. [Mamtsev A.N., Kozlov V.N., Bondareva I.A. *Eksperimentalnaya otsenka yodobogashchennykh ratsionov pitaniya i khronobiologicheskikh issledovaniy i khemilyuminestsentnogo metoda analiza*. (Experimental evaluation of iodine fortified

diets and feed on the basis of chronobiological research and chemiluminescence analysis method.) Ufa: Gilem. 2005; 107. (In Russ.)]

6. Самсонова Л.Н., Касаткина Э.П. Нормативы уровня тиреоидного гормона в крови: современное состояние проблемы // Пробл. эндокринол. — 2007. — Т. 53, №6. — С. 40-43. [Samsonova L.N., Kasatkina E.P. Standards of blood thyroid-stimulating levels: state-of-the-art. *Problemy endokrinologii*. 2007; 53 (6): 40-43. (In Russ.)]

7. Теннермен Дж., Теннермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс. Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — 656 с. [Tepperman J., Tepperman H. *Metabolic and Endocrine Physiology: An Introductory Text*. Transl. from Engl. Moscow: Mir. 1989; 656.]

8. Яглова Н.В., Яглов В.В., Березов Т.Т. Проблемы экспериментального моделирования гипо- и гипертиреоидных состояний // Вестн. РАМН. — 2009. — №3. — С. 30-35. [Yaglova N.V., Yaglov V.V., Berезov T.T. Problems of experimental simulation of hypo- and hyperthyroidism. *Vestnik RAMN*. 2009; 3: 30-35. (In Russ.)]

УДК 612.084: 612.015.33: 612.015.11: 616.153.478.6: 616.12-009.72

## ИЗУЧЕНИЕ ДИСФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ И ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

Дмитрий Валериевич Медведев\*, Валентина Ивановна Звягина

Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

### Резерват

DOI: 10.17750/KMJ2015-837

**Цель.** Изучение значения нарушения метаболизма оксида азота для развития митохондриальной дисфункции при гипергомоцистеинемии.

**Методы.** Исследование проведено на 32 крысах-самцах линии Wistar. Гипергомоцистеинемия моделировалась путём внутрижелудочного введения суспензии метионина, приготовленной с использованием крахмала и твина-80, с добавлением этой аминокислоты в питьевую воду. Дефицит оксида азота индуцировали внутрибрюшинным введением раствора метилового эфира L-<sup>N</sup>-нитроаргинина (L-NAME).

**Результаты.** Гипергомоцистеинемия сопровождается нарушением функционирования митохондрий клеток сердца, выражающимся в нарастании уровня лактата в цитоплазме и развитии оксидативного стресса с усилением карбонилирования белков митохондрий. Оксидативный стресс в значительной мере компенсировался за счёт активации системы антиоксидантной защиты (в том числе посредством супероксиддисмутазы), о чём свидетельствуют незначительное снижение активности сукцинатдегидрогеназы и H<sup>+</sup>-АТФазы, отсутствие статистически значимых изменений активности цитоплазматической лактатдегидрогеназы. Твин-80 проявлял антиоксидантные свойства, снижая содержание карбонильных производных белков и активность супероксиддисмутазы в митохондриях кардиомиоцитов. Дефицит оксида азота, вызванный введением L-NAME, сопровождался торможением в митохондриях клеток сердца процессов аэробного окисления, о чём свидетельствует статистически значимое снижение активности сукцинатдегидрогеназы, а также незначительное падение активности лактатдегидрогеназы и накопление лактата в цитоплазме, и снижение окислительного фосфорилирования, что проявлялось в уменьшении активности H<sup>+</sup>-АТФазы. Одна из причин этих изменений — усиление карбонилирования белков из-за увеличения синтеза активных форм кислорода, которое не компенсируется в достаточной мере повышением активности супероксиддисмутазы.

**Вывод.** Так как гипергомоцистеинемия сопряжена со снижением концентрации метаболитов оксида азота в митохондриях клеток сердца, а изменения в этих органеллах после введения метионина имеют некоторое сходство с таковыми после введения L-NAME, можно утверждать, что дефицит оксида азота играет важную роль в патогенезе дисфункции митохондрий кардиомиоцитов при гипергомоцистеинемии.

**Ключевые слова:** гипергомоцистеинемия, оксид азота (II), метиловый эфир L-<sup>N</sup>-нитроаргинина (L-NAME), митохондриальная дисфункция, оксидативный стресс.

## THE STUDY OF CARDIOMYOCYTES MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN HYPERHOMOCYSTEINEMIA AND NITRIC OXYDE DEFICIENCY

D.V. Medvedev, V.I. Zvyagina

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

**Aim.** To study the influence of nitric oxide metabolism disturbance on the development of mitochondrial dysfunction in case of hyperhomocysteinemia.

**Methods.** The research was conducted on 32 Wistar male rats. Hyperhomocysteinemia was simulated by intragastric injection of methionine suspension prepared using starch and Tween-80 with addition of this amino acid into the drinking water. The nitric oxide deficiency was induced by intraperitoneal injection of L-<sup>N</sup>-nitroarginine methyl ester (L-NAME) solution.

Адрес для переписки: meddmit@mail.ru

**Results.** Hyperhomocysteinemia is accompanied by dysfunction of cardiac cells mitochondria, manifesting in growth of cytoplasmic lactate level and development of oxidative stress with increased mitochondrial proteins carbonylation. Oxidative stress is largely compensated by the activation of the antioxidant defense system (including superoxide dismutase), as evidenced by a slight decrease of succinate dehydrogenase and H<sup>+</sup>-ATPase activity, the absence of statistically significant changes of cytoplasmic lactate dehydrogenase activity. Tween-80 showed antioxidant properties, reducing the content of protein carbonyl derivatives and superoxide dismutase activity. Nitric oxide deficiency caused by the L-NAME injection was accompanied by an inhibition of aerobic oxidation processes in cardiomyocytes mitochondria, which was proved by a significant decrease in succinate dehydrogenase activity as well as slight reduction of lactate dehydrogenase activity and lactate accumulation in the cytoplasm, and an oxidative phosphorylation reduction which manifested with a decrease of H<sup>+</sup>-ATPase activity. One reason for these changes is increased carbonylation of proteins due to high production of reactive oxygen species, which is not sufficiently compensated by increased activity of superoxide dismutase.

**Conclusion.** Since hyperhomocysteinemia is associated with reduced concentrations of nitric oxide metabolites in cardiomyocytes mitochondria, and changes in these organelles after the administering of methionine have some similarities with those after injection of L-NAME, it can be argued that nitric oxide deficiency plays an important role in the pathogenesis of mitochondrial dysfunction of cardiomyocytes in case of hyperhomocysteinemia.

**Keywords:** hyperhomocysteinemia, nitric oxide (II), L-N<sup>o</sup>-nitroarginine methyl ester (L-NAME), mitochondrial dysfunction, oxidative stress.

Сердечно-сосудистые заболевания — основная причина смерти населения всех экономически развитых стран. В России показатели смертности от сердечно-сосудистых заболеваний — одни из самых высоких в мире и превосходят таковые в США, Японии и некоторых странах Европы более чем в 4 раза [8].

Как показали исследования MONICA (от англ. Multinational MONItoring of trends and determinants in CARDiovascular disease — Международный мониторинг тенденций и факторов риска при сердечно-сосудистых заболеваниях), классические факторы риска атеросклероза не могут полностью объяснить развитие сердечно-сосудистых заболеваний, поэтому на сегодняшний день большое внимание уделяют относительно недавно открытым факторам риска, одним из которых является гипергомоцистеинемия.

Первые данные о повышенной частоте сердечно-сосудистых заболеваний у людей с гомотистинурией появились в 60-х годах XX века, причём тяжёлые поражения отмечались даже у детей. Затем было показано, что гомотистинурия, обусловленная наследственными дефектами ферментов, участвующих в метаболизме метионина (метилентетрагидрофолатредуктазы, метионинсинтазы, цистатионин-β-синтазы), а также дефицитом витамина B<sub>6</sub> и фолатов, приводит к развитию атеросклероза [14].

Повышенный уровень гомотистеина ассоциирован с риском развития не только сердечно-сосудистых заболеваний, но и неалкогольной жировой болезни печени [2], нейродегенеративных заболеваний [12], остеопороза [14], осложнений беременности и врождённых пороков развития плода [9].

Такое многообразие патологии, сопряжённой с гипергомоцистеинемией, невозможно объяснить только с традиционных позиций влияния этой аминокислоты на

сосудистую стенку. Токсические эффекты гомотистеина относительно неспецифичны: разрушение дисульфидных связей в белках, нарушение реакций трансметилирования, усиление перекисного окисления белков и липидов [11]. Важным звеном в патологическом действии гомотистеина является митохондриальная дисфункция [11], сопровождающаяся нарушением энергетических процессов в клетке и развитием оксидативного стресса.

В литературе есть данные о том, что гомотистеин способен снижать эффекты оксида азота (NO) [9]. При этом механизм данного явления неясен. Одни авторы связывают его со снижением биодоступности NO вследствие ускоренной инактивации этого низкомолекулярного регулятора под действием активных форм кислорода в условиях оксидативного стресса [9], другие указывают на торможение синтеза NO из-за так называемого разобщения NO-синтаз под действием асимметричного диметиларгинина, накапливающегося при гипергомоцистеинемии вследствие посттрансляционного ингибирования диметиларгининдиметиламиногидролазы — фермента, катализирующего его разрушение [16]. Учитывая важную роль NO в регуляции функционирования митохондрий [13], можно предположить, что снижение его эффектов в митохондриях может иметь большое значение для развития дисфункции этих органелл.

Целью исследования стало изучение изменений в функционировании митохондрий клеток сердца крыс в условиях гипергомоцистеинемии и индуцированного L-N<sup>o</sup>-нитроаргинина метиловым эфиром (L-NAME) дефицита NO.

Исследование проведено на 32 крысах-самцах линии Wistar с массой тела 250–350 г. Работа с животными осуществлялась в соответствии с «Европейской конвенцией

о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23.08.2010 №708н и приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 №755.

Животные были разделены на четыре равные группы.

Первая группа служила для моделирования гипергомоцистеинемии. Этим крысам в течение 21 дня внутрижелудочно через зонд вводили 25% суспензию метионина в дозе 1,5 г/кг массы тела 2 раза в сутки с добавлением 1% этой аминокислоты в питьевую воду.

Вторая группа была контрольной по отношению к первой (контроль). Животные этой группы по аналогичной схеме получали суспензионную основу (водный раствор, содержащий 10% твина-80 и 1% крахмала) без метионина [5].

Третья группа использовалась для моделирования дефицита NO. С этой целью животным вводили неселективный ингибитор NO-синтазы L-NAME, разведённый изотоническим раствором натрия хлорида до концентрации 0,5%, в дозе 25 мг/кг внутривенно в течение 7 сут.

Четвёртая группа служила контрольной по отношению к третьей (контроль 2). Крысам этой группы в том же объёме внутривенно вводили изотонический раствор натрия хлорида [18].

По окончании сроков введения препаратов животных умерщвляли под эфирным рауш-наркозом путём вскрытия брюшной полости и пересечения брюшной аорты. При этом отбирали кровь и сердце. Из крови получали сыворотку. От сердца отделяли левый желудочек и гомогенизировали на гомогенизаторе Potter S («Sartorius») в среде, содержащей 250 мМ сахарозы, 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), приготовленной на 20 мМ трис-буфере с pH=7,4. Затем методом дифференциально-центрифугирования выделяли митохондрии [7]. Полученные митохондрии ресуспендировали в среде, содержащей 250 мМ сахарозы, приготовленной на 20 мМ трис-буфере с pH=7,4.

Суспензию митохондрий разделяли на две части. Первую использовали для определения активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и  $H^+$ -АТФазы. Ко второй части с целью разрушения митохондриальных мембран добавляли «Тритон X-100» до кон-

центрации 0,02%. В этой части определяли остальные показатели митохондрий. Из цитоплазматической фракции удаляли лизосомы за счёт центрифугирования при 20 000 g. Надосадок (неседиментированную фракцию) также использовали для анализа.

В сыворотке крови определяли концентрацию гомоцистеина набором для иммуноферментного анализа производства «Axis Shield» и концентрацию метаболитов оксида азота (нитритов и нитратов) методом в модификации В.А. Метельской по реакции диазотирования и азосочетания [6].

В цитоплазматической фракции определяли концентрацию белка методом Лоури набором производства «Экосервис», уровень лактата — лактатоксидазным методом набором производства «Ольвекс-диагностикум», активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) — с помощью набора производства «DiaSys».

В суспензии митохондрий определяли концентрацию белка методом Лоури набором производства «Экосервис», концентрацию метаболитов NO — методом в модификации В.А. Метельской, активность СДГ — по реакции восстановления гексацианоферрата (III) калия [7], активность  $H^+$ -АТФазы — определяя содержание неорганического фосфата методом Боданского после остановки реакции [1], активность супероксиддисмутазы (СОД) — по торможению реакции аутоокисления кверцетина [4], активность ЛДГ — набором производства «Diasys». Окислительную модификацию белков оценивали по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [3], о содержании карбонильных производных судили по площади под кривой окислительной модификации белков [10].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы MS Excel. Соответствие выборок нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Так как по всем показателям хотя бы в одной из групп распределение отличалось от нормального, для проверки значимости различий значений в группах использовали критерий Краскела-Уоллиса, а для попарного сравнения групп — непараметрический вариант критерия Ньюмена-Кейлса. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Введение метионина в дозе 1,5 г/кг 2 раза в день в течение 3 нед с добавлением его в питьевую воду вызывает у крыс развитие тяжёлой гипергомоцистеинемии — уровень гомоцистеина в сыворотке крови

Таблица 1

Биохимические показатели неседimentированной и митохондриальной фракций, полученных из левых желудочков сердец крыс

Показатель \ Группа	Метионин	Суспензионная основа (контроль 1)	L-NAME	Изотонический раствор натрия хлорида (контроль 2)	Статистически значимые изменения
Неседimentированная фракция (цитоплазма, лишённая митохондрий и лизосом)					
Концентрация белка, мг/мл	4,61 [3,86; 5,78]	5,73 [5,32; 6,14]	5,82 [5,57; 6,39]	5,59 [5,47; 5,87]	—
Активность ЛДГ, ЕД/г белка	4716,72 [2864,15; 6621,97]	4608,85 [4280,33; 5023,93]	3158,44 [2744,05; 3546,28]	3790,31 [2638,16; 4507,96]	—
Концентрация лактата в цитоплазме, ммоль/г белка	0,33 [0,29; 0,58]	0,28 [0,23; 0,30]	0,31 [0,24; 0,35]	0,26 [0,20; 0,42]	p <sub>2-1</sub> <0,05 ↑17,86%
Митохондриальная фракция					
Концентрация белка, мг/мл	8,27 [6,54; 10,25]	7,44 [6,41; 8,86]	7,47 [5,98; 8,80]	5,64 [4,72; 7,17]	—
Концентрация метаболитов NO, мкмоль/г белка	49,1 [34,47; 55,44]	59,6 [56,32; 66,89]	43,25 [35,27; 45,80]	53,68 [48,87; 68,05]	p <sub>2-1</sub> <0,05 ↓17,62% p <sub>2-3</sub> <0,05 ↓27,4% p <sub>4-3</sub> <0,05 ↓19,4%
Активность СОД, у.е./мг белка	1,44 [0,65; 4,47]	0,40 [0,28; 0,43]	2,40 [1,93; 3,20]	0,92 [0,89; 2,05]	p <sub>2-1</sub> <0,05 ↑260% p <sub>4-3</sub> <0,05 ↑161% p <sub>4-2</sub> <0,01 ↓130%
Активность СДГ, нмоль сукцината/мг белка в минуту	168,61 [81,77; 289,90]	276,12 [251,91; 282,25]	182,23 [158,99; 237,11]	285,11 [231,05; 341,19]	p <sub>2-1</sub> <0,05 ↓38,9% p <sub>2-3</sub> <0,05 ↓34,0% p <sub>4-3</sub> <0,05 ↓36,1%
Активность Н <sup>+</sup> -АТФазы, мкмоль фосфата/мг белка в час	12,36 [10,28; 13,61]	13,15 [11,52; 14,26]	8,40 [7,77; 9,07]	14,43 [12,06; 18,29]	p <sub>1-3</sub> <0,01 ↓32,0% p <sub>2-3</sub> <0,01 ↓36,1% p <sub>4-3</sub> <0,01 ↓41,8%
Площадь под кривой ОМБ, у.е./мг белка	3,58 [3,17; 3,55]	0,87 [0,50; 1,29]	6,43 [5,63; 13,52]	5,47 [2,95; 7,40]	p <sub>2-1</sub> <0,01 ↑310,1% p <sub>4-3</sub> <0,05 ↓17,6% p <sub>4-1</sub> <0,01 ↓84,0%

Примечание. Все результаты представлены в форме: медиана [1-й квартиль; 3-й квартиль]. В последнем столбце в процентах указана разница медиан. ЛДГ — лактатдегидрогеназа; NO — оксид азота (II); СОД — супероксиддисмутаза; СДГ — сукцинатдегидрогеназа; АТФ — аденозинтрифосфат; ОМБ — окислительная модификация белков.

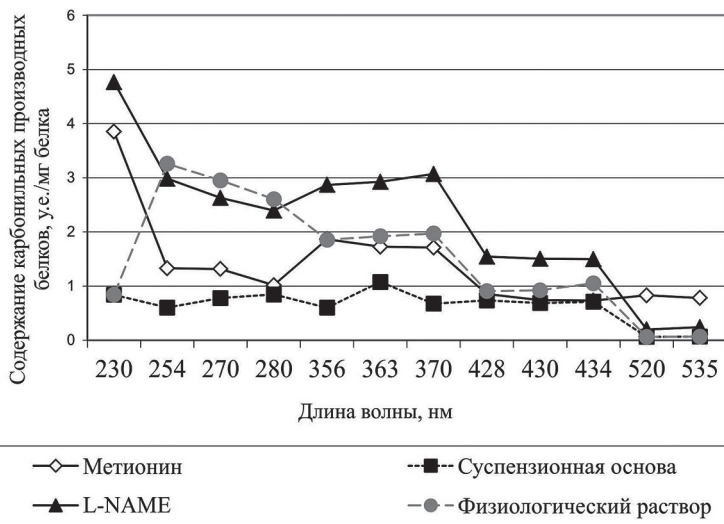


Рис. 1. Содержание карбонильных производных белков; L-NAME – метиловый эфир L-N<sup>o</sup>-нитроаргинина

животных увеличивается по сравнению с соответствующей контрольной группой более чем в 50 раз — с 5,8 [5,6; 5,9] до 291,65 [277,38; 334,43] мкмоль/л ( $p < 0,01$ ). Введение L-NAME в дозе 25 мг/кг 1 раз в день в течение 1 нед приводило к снижению концентрации метаболитов NO в сыворотке крови с 58,45 [42,13; 69,79] до 36,36 [32,75; 37,93] мкмоль/л, то есть на 37,8% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой животных, получавших изотонический раствор натрия хлорида.

Результаты измерений в гомогенатах миокарда крыс представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, во всех четырех группах не было выявлено статистически значимых изменений концентрации белка в цитоплазме и митохондриях кардиомиоцитов. Введение и метионина, и L-NAME вызывало сходные изменения в энергетическом обмене клеток сердца: накопление лактата в цитоплазме, а в митохондриях — снижение активности СДГ, свидетельствующие о нарушении в этих органеллах процессов аэробного окисления, и H<sup>+</sup>-АТФазы, указывающее на торможение окислительного фосфорилирования. При этом L-NAME вызывал более выраженные изменения, проявляющиеся резким и статистически значимым падением активности СДГ, H<sup>+</sup>-АТФазы и цитоплазматической ЛДГ, в то время как у крыс с гипергомоцистеинемией изменение активности этих ферментов не было статистически значимым.

Изучали также влияние гипергомоцистеинемии и дефицита NO на процессы перекисного окисления белков в клетках сердца.

С этой целью в митохондриях кардиомиоцитов определяли активность СОД и содержание карбонильных производных белков (рис. 1, см. табл. 1).

В ходе эксперимента были обнаружены различия в этих показателях в двух контрольных группах: введение твина-80 приводило к статистически значимому снижению активности СОД и концентрации карбонилированных белков относительно группы, получавшей изотонический раствор натрия хлорида (физиологический раствор). Эти данные свидетельствуют о наличии у твина-80 антиоксидантного эффекта, что согласуется с данными литературы [15]. Из-за различий в контрольных группах сравнение экспериментальных групп друг с другом по этим показателям не проводили. Выявлено, что у крыс с гипергомоцистеинемией в митохондриях клеток сердца происходило увеличение активности СОД и содержания карбонильных производных белков относительно группы, получавшей твин-80. Введение L-NAME также приводило к повышению этих показателей относительно группы, получавшей изотонический раствор натрия хлорида. Таким образом, введение и метионина, и L-NAME вызывало усиление процессов перекисного окисления белков в митохондриях кардиомиоцитов.

Кроме того, в группах, получавших метионин и L-NAME, наблюдалось снижение концентрации метаболитов NO в митохондриях. Считают, что в физиологических концентрациях NO может выступать как антиоксидант, чей эффект обусловлен тор-



можением развития радикальных окислительных реакций за счёт связывания со свободными и входящими в состав гема ионами железа и ингибирования реакции Фентона [17]. Исходя из этих представлений, можно предполагать, что дефицит NO способствует развитию оксидативного стресса. В то же время чрезмерное образование активных форм кислорода ускоряет инактивацию NO и снижает его биодоступность. Гиперпродукцию активных форм кислорода и дефицит оксида азота, обладающего антиоксидантными свойствами, можно рассматривать как звенья одного порочного круга патогенеза.

Таким образом, гипергомоцистеинемия сопряжена со снижением концентрации метаболитов NO в митохондриях кардиомиоцитов, а изменения в этих органеллах после введения метионина имеют некоторое сходство с таковыми после введения L-NAME. Это позволяет утверждать, что дефицит оксида азота играет важную роль в патогенезе дисфункции митохондрий при гипергомоцистеинемии.

## ВЫВОДЫ

1. Гипергомоцистеинемия у крыс, вызванная 3-недельным введением метионина, сопровождается нарушением функционирования митохондрий клеток сердца, выражающимся в нарастании уровня лактата в цитоплазме и развитии оксидативного стресса с усилением карбонилирования белков митохондрий. Оксидативный стресс в значительной мере компенсируется за счёт активации системы антиоксидантной защиты (в том числе посредством супероксиддисмутазы), о чём свидетельствует незначительное снижение активности сукцинатдегидрогеназы,  $H^+$ -АТФазы, отсутствие статистически значимых изменений активности цитоплазматической лактатдегидрогеназы.

2. Твин-80 проявляет антиоксидантные свойства, снижая содержание карбонильных производных белков и активность супероксиддисмутазы в митохондриях кардиомиоцитов крыс.

3. Дефицит оксида азота у крыс, вызванный введением L-NAME, сопровождается торможением в митохондриях клеток сердца процессов аэробного окисления, о чём свидетельствует статистически значимое снижение активности сукцинатдегидрогеназы, а также незначительное падение

активности лактатдегидрогеназы и накопление лактата в цитоплазме, и снижение окислительного фосфорилирования, что проявляется в уменьшении активности  $H^+$ -АТФазы. Одна из причин этих изменений — усиление карбонилирования белков из-за увеличения синтеза активных форм кислорода, которое не компенсируется в достаточной мере повышением активности супероксиддисмутазы.

4. Поскольку гипергомоцистеинемия у крыс сопряжена со снижением концентрации метаболитов NO в митохондриях клеток сердца, а изменения в этих органеллах после введения метионина имеют некоторое сходство с таковыми после введения L-NAME, можно утверждать, что дефицит оксида азота играет важную роль в патогенезе дисфункции митохондрий кардиомиоцитов при гипергомоцистеинемии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Биоэнергетика клетки. Химия патологических процессов / Под ред. В.Ю. Сереброва, Г.А. Сухановой. — Томск: Сиб. гос. мед. ун-т, 2008. — С. 79–82. [*Bioenergetika kletki. Khimiya patologicheskikh protsessov.* (Cell bionergy. Chemistry of pathological processes.) Ed. by V.Yu. Serebrova, G.A. Sukhanova. Tomsk: Sibirskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet. 2008; 79–82. (In Russ.)]
2. Глушенко С.В. Гипергомоцистеинемия как предиктор развития и прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени // Пробл. безперервної мед. освіти та науки. — 2014. — №2. — С. 89–92. [Glushchenko S.V. Hyperhomocysteinemia as a predictor of a development and progressing of nonalcoholic fatty liver disease. *Problemy bezpererвної medychnoyi osvity ta nauky.* 2014; 2: 89–92. (In Russ.)]
3. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. — СПб.: Мед. пресса, 2006. — С. 276–282. [Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funktsionalnoy aktivnosti kletok (zhizn i smert, sozidanie i razrushenie).* Fiziologicheskie i kliniko-biokhimicheskie aspekty. (Oxygen metabolism products in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction). Physiological, clinical and biochemical aspects.) Saint Petersburg: Med. Pressa. 2006; 276–282. (In Russ.)]
4. Костюк В.А., Потопович А.И., Ковалёва Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. хим. — 1990. — №2. — С. 88–91. [Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. A simple and sensitive method of determination of superoxide dismutase activity based on the reaction of quercetin oxidation. *Voprosy meditsinskoj khimii.* 1990; 2: 88–91. (In Russ.)]
5. Медведев Д.В., Звягина В.И., Фомина М.А. Способ моделирования тяжёлой формы гипергомоцистеинемии у крыс // Рос. мед.-биол. вестн. им. И.П. Павлова. — 2014. — №4. — С. 42–46. [Medvedev D.V., Zvyagina V.I., Fomina M.A. Modeling of severe hyperhomocysteinemia in rats. *Rossiyskiy mediko-biologicheskij vestnik im. I.P. Pavlova.* 2014; 4: 42–46. (In Russ.)]
6. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод

определения уровня метаболитов оксида азота в сыроворотке // Клини. лаб. диагност. — 2005. — №6. — С. 15–18. [Metelskaya V.A., Gumanova N.G. Screening as a method for determining the serum level of nitric oxide metabolites. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2005; 6: 15–18. (In Russ.)]

7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. — 327 с. [Metody biokhimicheskikh issledovaniy. *Lipidnyy i energeticheskiy obmen*. (Methods of biochemical research. Lipid and energy metabolism.) Ed. by M.I. Prokhorova. Leningrad: Izdatelstvo Leningratskogo universiteta. 1982; 327 p. (In Russ.)]

8. Оганов Р.Г. Сердечно-сосудистые заболевания в начале XXI века: медицинские, социальные, демографические аспекты и пути профилактики // Медицина труда, восстановительная и профилактическая медицина. — 2010. — Т. 11. — С. 257–264. [Oganov R.G. *Cardiovascular disease at the beginning of the XXI century: medical, social, demographic aspects and ways of prevention*. *Meditsina truda, vosstanovitel'naya i profilakticheskaya meditsina*. 2010; 11: 257–264. (In Russ.)]

9. Плотский А.Р. Роль гомоцистеина в генезе врождённых пороков развития плода // Репрод. здоровье в Беларуси. — 2009. — №5 (05). — С. 58–65. [Plotskiy A.R. The role of homocysteine in the genesis of congenital malformations of the fetus. *Reproduktivnoe zdorove v belarusi*. 2009; 5: 58–65. (In Russ.)]

10. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В., Фомина Н.В., Терентьев А.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях. Патент №2524667 РФ, МПК

11. G01N33/52. Бюлл. №21 от 27.07.2014. [Fomina M.A., Abalenikhina Yu.V., Fomina N.V., Terentev A.A. Method for complex evaluation of proteins oxidative modification in tissues and biological fluids. Patent for invention №2524667 RU. Issued at 27.07.2014. (In Russ.)]

11. Arun K., Lijo J., Shrivadeep M. et al. Converging evidence of mitochondrial dysfunction in a yeast model of homocysteine metabolism imbalance // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286, N 24. — P. 21 779–21 795.

12. Herrmann W., Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases // *Clin. Chem. Lab. Med. (CCLM)*. — 2011. — Vol. 49, iss. 3. — P. 435–441.

13. Martinez-Ruiz A., Cadenas S., Lamas S. Nitric oxide signaling: classical, less classical, and nonclassical mechanisms // *Free Rad. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 51, iss. 1. — P. 17–29.

14. McCully K.S. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives // *Clin. Chem. Lab. Med. (CCLM)*. — 2005. — Vol. 43, iss. 10. — P. 980–986.

15. Pérez-Rosés R., Risco E., Vila R. et al. Antioxidant activity of Tween-20 and Tween-80 evaluated through different in-vitro tests // *J. Pharmac. Pharmacol.* — 2015. — Vol. 67, N 5. — P. 666–672.

16. Stühlinger M.C., Tsao P.S., Jeng-Horng H. et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway. Role of asymmetric dimethylarginine // *Circulation.* — 2001. — Vol. 104. — P. 2569–2575.

17. Wink D.A., Miranda K.M., Espey M.G. et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide // *Antioxidants Redox Signaling.* — 2001. — Vol. 3, N 2. — P. 203–213.

18. Zun Y.W., Hakanson R. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation // *Brit. J. Pharmacol.* — 1995. — Vol. 116. — P. 244–245.

УДК 612.084: 612.67: 612.015.11: 612.397.2: 612.015.38: 616-089.22: 616.419

## ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Виктор Николаевич Мещанинов\*, Денис Леонидович Щербаков

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия;

Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия

### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-843

**Цель.** Выявить возрастные особенности изменений системы «перекисное окисление и антиокислительная активность» в организме крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и в условиях коррекции нейромедиаторами.

**Методы.** Работа проведена на 410 крысах-самцах линии Вистар зрелого и старого возраста. Иммобилизацию крыс обеспечивали путём обездвиживания в пластиковых пеналах на 12 ч. Инъекции нейромедиаторов проводили подкожно: растворы ацетилхолина хлорида, эпинефрина (адреналина гидрохлорида), L-триптофана, никотиновой кислоты. После декапитации в органах животных исследовали показатели перекисного окисления липидов, антиокислительной активности, рутинные биохимические и гематологические показатели стандартизированными методами.

**Результаты.** Иммобилизационный стресс вызывал фазные изменения процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в системе крови крыс, которые соответствуют стадиям стресс-реакции; с увеличением возраста у старых крыс отмечалась более ранняя активация перекисного окисления липидов. С возрастом в системе крови крыс происходило ослабление влияния парасимпатической нервной системы и усиливалось действие симпатической, что может приводить к возраст-зависимым изменениям интенсивности перекисного окисления липидов при стресс-воздействии. L-триптофан и никотиновая кислота при стресс-воздействии у зрелых и старых крыс вызывали антиоксидантный, у старых крыс — гиполипидемический геропрофилактический эффект.

**Вывод.** Иммобилизационное стресс-воздействие вызывает негативные гиперлипидемические изменения в периферической крови крыс старого возраста, но в условиях воздействия сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты происходит нормализация липидного и липопротеидного состава крови, что демонстрирует геропрофилактические, гиполипидемические качества неантиоксидантного генеза.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, возраст, перекисное окисление липидов, нейромедиаторы.